

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

MARCO ANTONIO THOMAZ

**DETERMINAÇÃO DE SEXO EM TUVIRAS (*Gymnotus* sp.)
ATRAVÉS DE PUNÇÃO ABDOMINAL**

**URUGUAIANA
2017**

MARCO ANTONIO THOMAZ

**DETERMINAÇÃO DE SEXO EM TUVIRAS (*Gymnotus* sp.)
ATRAVÉS DE PUNÇÃO ABDOMINAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Tecnólogo em Aquicultura.

Orientador: Carlos Frederico Ceccon Lanes

Coorientador: Antonio Cleber da Silva Camargo

**URUGUAIANA
2017**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

T452d Thomaz, Marco Antonio

Determinação de sexo em tuviras (*Gymnotus* sp.)
através de punção abdominal / Marco Antonio Thomaz.
40 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) --
Universidade Federal do Pampa, AQUICULTURA, 2017.
"Orientação: Carlos Frederico Ceccon Lanes".

1. Sexagem. 2. Dimorfismo. 3. Reprodução. 4.
Piscicultura. 5. Isca viva. I. Título.

MARCO ANTONIO THOMAZ

**DETERMINAÇÃO DE SEXO EM TUVIRAS (*Gymnotus* sp.)
ATRAVÉS DE PUNÇÃO ABDOMINAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Tecnólogo em Aquicultura.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e A em: 08 de dezembro de 2017.

Banca examinadora:



Prof. Dr. CARLOS FREDERICO CECCON LANES
Orientador



Prof. Dr. ANTONIO CLEBER DA SILVA CAMARGO



Prof. Dr. GIOVANI TAFFAREL BERGAMIN

Dedico este trabalho àqueles e àquelas que se fizeram presente durante minha trajetória acadêmica, e colaboraram para a formação de tecnólogo em aquicultura.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao Grande Arquiteto do Universo, por ter me concedido saúde, força, disposição e coragem para cursar uma Universidade. Por ter dado saúde aos meus familiares e tranquilizado o meu espírito nos momentos mais difíceis da minha trajetória acadêmica.

Obrigado aos meus Pais pela educação e ensinamentos de vida, a minha esposa Lene e aos meus filhos, Andressa, Jean e Cayo, pelo incentivo, carinho e a compreensão nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo acadêmico.

Agradeço à Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana, por me proporcionar um ambiente, criativo e amigável para os estudos. Sou grato a cada membro do corpo docente, à direção e a administração desta instituição de ensino.

Agradeço aos Docentes e técnicos do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, pelo ambiente agradável que impera em seus corredores, pelos exemplos de dedicação para com uma educação mais justa e respeitosa.

Ao Professor Dr. Carlos Frederico Ceccon Lanes que, com muita paciência e atenção, dedicou seu valioso tempo para me orientar, em cada passo deste trabalho, sua disponibilidade e na maneira paciente com que corrigiu meus textos.

Agradeço a meu coorientador Professor Dr. Antonio Cleber da Silva Camargo, que foi um grande incentivador, não medindo esforços para a realização deste trabalho, se fazendo presente nas diversas coletas.

Agradeço pela autorização concedida para as coletas das tuviras: ao Prof. Nino de Oliveira de Lima, Diretor do Colégio Agrícola Municipal Dr. Luiz Martins Bastos; Sr. Gregório Beheregaray – Proprietário da fazenda Palma, Barra do Quaraí – RS e ao Sr. Capitão QAO Adm G Gonçalves, Administrador da internada do Circulo Militar de Uruguaiana.

Aos meus amigos que dedicaram suas horas de lazer, não medindo esforços para auxiliar nas diversas coletas a campo: Luis Claudio, Rudinei, Mauricio, Jorge Renato, Victor, Luan, Kiko, Juliano, Fran, Lane, Carol, Thais e Guilherme.

Aos demais colegas do curso de Tecnologia em Aquicultura, meus sinceros agradecimentos sigam em frente, não desistam de vossos sonhos, lembrem o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

RESUMO

A grande quantidade de rios no Brasil tem possibilitado um aumento expressivo na pesca esportiva. É enorme a variedade de iscas utilizadas, sendo a tuvira (*Gymnotus* sp.), a isca viva mais procurada pelos pescadores, na captura dos grandes peixes carnívoros. A tuvira é um peixe de água doce, pertence à ordem dos Gymnotiformes, conhecida também como: peixe espada, sarapó, enguia, ituí morena, morenita e mamacha. É encontrada do sul da Argentina ao norte do México. Sua captura gera impacto ao meio ambiente e causa preocupação com as condições de trabalho das pessoas que exercem a atividade extrativista (isqueiros). A produção em cativeiro é dificultada pela falta de um protocolo adequado para a realização da reprodução através da indução hormonal. Além disso, o processo de sexagem em tувiras é difícil, já que as mesmas não apresentam dimorfismo sexual visível. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi verificar se a punção abdominal poderia ser utilizada como uma técnica confiável para a identificação do sexo de tувiras adultas (*Gymnotus* sp.). Para isso, os animais foram coletados entre Novembro de 2016 e Outubro de 2017 em arroios e barragens dos municípios de Uruguaiana e Barra do Quaraí-RS. Durante esse período foram coletadas 85 tувiras sendo mantidas em tanques de concreto no Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura (CTPA). Antes da realização da punção abdominal, cinco indivíduos foram dissecados para estabelecer a localização exata das gônadas. Com base nessas informações, a punção foi realizada 6 cm distante da ponta da cabeça do animal e cerca de 1 cm abaixo da linha lateral com um dispositivo de infusão intravenosa escalpe (número 19G) conectado a uma seringa de 5 mL. A agulha foi introduzida formando um ângulo entre 40 e 45° em relação ao corpo da tuvira. A punção abdominal foi realizada em 24 animais adultos que apresentaram o tamanho maior do que 20 cm. Através da dissecação verificou-se que dos 24 animais avaliados, 22 indivíduos foram sexados corretamente através da punção abdominal, sendo o grau de acerto de 91,66%. A taxa de sobrevivência dos animais após 96 horas a realização da punção abdominal foi de 100%. Esses resultados indicam que a punção abdominal é uma técnica fácil, simples, barata e pode ser realizada em tувiras de uma maneira confiável.

Palavras-chave: Sexagem, Dimorfismo, Reprodução, Piscicultura, Isca viva.

ABSTRACT

The large amount of rivers in Brazil has made possible an expressive increase in the sport fishing. The variety of used baits is massive, and the *tuvira* (*Gymnotus* sp.) is the living bait most used by fishermen in the capture of large carnivorous fish. Tuvira is a freshwater fish, belonging to the order of the Gymnotiformes, also known as: swordfish, sarapó, eel, ituí, morena, morenita and mamacha. It is found from South of Argentina to the North of Mexico. Its capture has a negative impact on the environment and causes concern to the working conditions of the people who carry out the extractive activity (bait men). Tuvira farming is still limited due to lack of an adequate protocol to perform of hormonal induction. In addition, the process of sexing in tuviras is difficult since they do not present sexual dimorphism. Thus, the aim of this study was to verify if the abdominal puncture could be used as a reliable technique to identify the sex of tuviras (*Gymnotus* sp.). Animals were collected between November 2016 and October 2017 in streams and dams located at Uruguaiana and Barra do Quaraí-RS cities. Eighty five individuals were collected and kept in concrete tanks of the Technology Centre of Fisheries and Aquaculture. Before performing the abdominal puncture, five individuals were dissected to determine the exact location of the gonads. Based on this information, the abdominal puncture was performed six centimeters away from the tip of the animal's head and 1 centimeter below the lateral line with an intravenous infusion set (number 19G) connected to a 5-mL syringe. The needle was introduced at an angle between 40° and 45° in relation to tuvira body. Abdominal puncture was performed in 24 adult animals that were larger than 20 cm in size. Twenty-two individuals were sexed correctly and the accuracy degree was 91.66%. The survival rate of the animals after 96 hours of abdominal puncture was 100%. These results indicate that abdominal puncture is an easy, simple and inexpensive technique and that it can be performed in a reliable way.

Keywords: Sexing, Dimorphism, Reproduction, Fish farming, Live bait.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Caracterização da espécie	12
1.2 Reprodução e indução hormonal	13
1.3 Técnicas de sexagem	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Coleta dos animais e análises morfométricas	19
3.2 Determinação da localização das gônadas e avaliação tamanho dos ovócitos ..	20
3.3 Punção abdominal.....	21
3.4 Dissecção dos animais para confirmação dos resultados	23
3.5 Análises Estatísticas	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Análises morfométricas	23
4.2 Determinação da localização das gônadas e avaliação tamanho dos ovócitos ..	25
4.3 Punção abdominal.....	28
4.4 Dissecção dos animais para confirmação dos resultados	30
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um lugar propício para a prática da pesca amadora, já que apresenta grande número de rios e 8 mil quilômetros de costa marítima. Além disso, há grande diversidade de espécies de peixes e áreas preservadas, o que atrai pescadores de todo o mundo. O país é considerado o mais importante destino de pesca amadora do mundo, sendo que somente na Amazônia cerca de três mil turistas estrangeiros desembarcam todos os anos para pescar (MTUR, 2010).

O termo “pesca amadora”, definido pela Lei 11.959/2009, é aquela praticada por brasileiro ou estrangeiro, com equipamentos ou petrechos previstos em legislação específica, tendo por finalidade o lazer ou o desporto. A transformação da pesca amadora em instrumento de desenvolvimento econômico, social e de conservação ambiental é o principal objetivo do Programa Nacional de Desenvolvimento da Pesca Amadora (PNDPA). De acordo com Fabri (2006), o turismo de pesca amadora no Brasil teve grande expansão desde o começo da década de 1990 e estima-se que hoje existam 25 milhões de pescadores amadores ocasionais no país.

Os destinos mais famosos para a pesca em rios são a Amazônia, o Pantanal (MT/MS), além dos rios Araguaia, São Francisco, Paraná e o Uruguai. Existem muitas espécies encontradas nas águas doces brasileiras, que são extremamente desafiadoras. Dentre as nativas destacam-se: o cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), o dourado (*Salminus brasiliensis*), o jaú (*Paulicea luetkeni*), o matrinxã (*Brycon cephalus*), o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e o tucunaré (*Cichla ocellaris*). Além de espécies exóticas como o black bass (*Micropterus salmoides*). A depender da espécie de interesse existente na região, equipamentos, iscas, entre outros objetos ou serviços são demandados pelo pescador. A escolha da isca apropriada também está diretamente relacionada com o conhecimento prévio acerca dos hábitos alimentares das espécies que se deseja pescar. Dois tipos de iscas são utilizados em geral para a captura de peixes: a natural ou viva e a artificial (MTUR, 2010).

Na pesca continental existe um intenso comércio de iscas vivas, principalmente no estado do Mato Grosso do Sul (MS). As mais comercializadas no Mato Grosso do Sul em 2007 foram: caboja (*Callichthys callichthys*), caranguejo (*Dilocarcinus pagei*), cascudo (*Hoplosternum littorale*), jejum (*Erythrinus erythrinus*), mussum (*Synbranchus marmoratus* e *Lepidosiren paradoxa*), pirambóia (*Lepidosiren*

paradoxa e *Synbranchus marmoratus*) e a tuvira (*Gymnotus inaequilabiatus*, *Gymnotus paraguensis*; *Gymnotus pantanal* e *Gymnotus carapo*). Dentre as 1.230.229 iscas vivas comercializadas no Estado do Mato Grosso do Sul, a tuvira representou 75,5% desse total (SILVA, 2009). No entanto, essas iscas vivas são oriundas apenas da atividade extrativista.

Em 2012, 4,04 milhões de iscas vivas foram comercializadas no Estado do Mato Grosso do Sul conforme os registros do Sistema de Controle da Pesca de Mato Grosso do Sul - SCPESCA/MS. Esses dados demonstram que o comércio de iscas vivas no Estado do MS vem aumentando ao longo do tempo. Da mesma forma que em 2007, as tuviras (*Gymnotus* spp.) continuam sendo as iscas vivas mais comercializadas, representando 76,8% do total de iscas comercializadas no ano de 2012 no Estado de MS (RIBEIRO, 2014). De acordo com GERVÁSIO (2006), grupos de turistas pescadores, formados por oito a dez membros, chegam a consumir de 1.200 a 1.500 iscas vivas em até cinco dias de pescaria na região de Corumbá – MS.

Na Argentina, o comércio de iscas vivas é elevado e o principal gênero comercializado também é o *Gymnotus*, assim como, no Estado de MS. As espécies mais comercializadas como isca viva na região Nordeste da Argentina são: *Gymnotus omarorum*, *Gymnotus pantanal*, *Gymnotus carapo* e *Gymnotus sylvius*. As províncias do Chaco, Corrientes e Formosa possuem regulamentos para captura, comércio e venda das iscas vivas. Por exemplo, em Laguna Blanca, Parque nacional do rio Pilcomayo (província de Formosa, Argentina), o comércio de isca viva só é permitido, com espécies acima de 15 cm, tamanho da primeira maturação, o que não compromete a sustentabilidade da pesca e a reprodução da espécie. Uma dúzia de *Gymnotus*, dependendo do tamanho do espécime, da época do ano e da intensidade da demanda, pode ser vendida por cerca de 30 a 80 dólares (CASCIOTTA et al., 2013). No município de Paso de Los Libres, Província de Corrientes, na Argentina, as tuviras menores que 25 cm são comercializadas por R\$ 50 reais e maiores que 25 cm são comercializadas por R\$ 100 reais a dúzia.

A extração descontrolada das iscas vivas do meio natural para atender uma demanda cada vez maior de pescadores amadores acaba por influenciar drasticamente na população dessas espécies, comprometendo assim o equilíbrio do ecossistema (ROTTA, 2004). De acordo com Pereira (2001), o equipamento de captura mais utilizado pelos isqueiros é uma tela de náilon tipo mosquiteiro presa a

uma armação de madeira. A tela é manipulada geralmente por duas pessoas que a mergulham verticalmente na água sob a vegetação aquática, levantando-a horizontalmente o mais rápido possível sobre a superfície da água. Em seguida, as macrófitas são removidas e as iscas de interesse – tuvira, caranguejo, mussum, jejum e cascudo – são retiradas da tela e transferidas para um recipiente com água para serem transportadas.

1.1 Caracterização da espécie

A tuvira é a principal isca viva utilizada na pesca esportiva, movimentando um grande contingente humano, garantindo a sobrevivência de muitas famílias na região do Pantanal (ALBUQUERQUE et al., 2003). A tuvira (*Gymnotus* sp.) é um peixe da classe dos Actinoptérgios de água doce e pertence à ordem dos Gymnotiformes, família dos Gymnotidae. Encontram-se distribuídas desde o sul da Argentina até o limite norte do México. Os Gymnotiformes apresentam corpo anguilliforme, abertura branquial muito estreita, não possuem nadadeiras dorsal e ventral, mas possuem nadadeira anal muito longa, estendendo-se por quase toda a face ventral (THEODORO, 2003). Possuem órgãos elétricos que emitem pequenas descargas elétricas para eletrocomunicação. É uma espécie que possui respiração aérea facultativa (acessória), para isso, utiliza a bexiga natatória, bastante vascularizada, como órgão de respiração aérea o que possibilita a manutenção da vida em ambientes com pouca disponibilidade de oxigênio (ROTTA, 2004). As tuviras vivem em ambientes lênticos com plantas aquáticas de raizame denso, como: *Limnobium laevigatum*, *Oxycaryum cubense*, *Eichhornia crassipes* e *Eichhornia azurea*, onde se abrigam e encontram alimentos (RESENDE & PEREIRA 2006). Possuem hábito noturno, saindo no crepúsculo para águas mais abertas (MENIN, 1989ab; BARBIERI & BARBIERI, 1983a, 1984b). Segundo Resende (2006), as tuviras são carnívoras generalistas e alimentam-se seletivamente da fauna associada às raízes de macrófitas aquáticas. A alimentação é baseada em invertebrados, sendo os insetos, o recurso alimentar preferido, seguido de cladóceras. A tuvira apresenta crescimento rápido em comprimento no primeiro ano de vida, atingindo em média, cerca de 20 cm (ROTTA, 2004).

A maturação gonadal das tuviras, no Pantanal, ocorre com o tamanho médio de 24 cm (SANTOS, 1978). No entanto, é possível encontrar tuviras maduras sexualmente a partir dos 14 cm (RESENDE, 2006). Tuviras coletadas no Parque

Estadual do Itapuã, em Porto Alegre, RS, apresentaram o tamanho da primeira maturação gonadal de 14,1 cm para as fêmeas e de 14,6 cm para os machos. Além disso, foi observado que a reprodução sazonal da tuvira foi de novembro a março no Parque Estadual do Itapuã, com uma fecundidade média de 915,3 ovócitos (COGNATO, 2005). Em Laguna Blanca, o período reprodutivo começa na primavera, com uma importante desova no início de outubro, e se estende até o final do verão. Exemplares nas condições de desovados foram verificados no final do verão e início do outono (IWASZKIW et al., 2016).

A ocorrência de vários lotes de ovos em diferentes graus de desenvolvimento nas fêmeas encontradas na natureza revela que a tuvira elimina vários lotes durante um período reprodutivo, apresentando, portanto, desova do tipo parcelada (RESENDE, 1999; BARBIERI & BARBIERI, 1981, 1982c, 1985).

1.2 Reprodução e indução hormonal

Em cativeiro, várias espécies de peixes não desovam de forma natural, sendo necessária a aplicação de hormônios (ZOHAR & MYLONAS, 2007). Os processos fisiológicos envolvidos na reprodução de peixes incluem a diferenciação das gônadas, gametogênese, liberação de gametas, fertilização e eclosão dos ovos. Todos estes eventos da cascata reprodutiva são controlados por fatores ambientais e fatores endócrinos ao longo do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas como ilustrado na Figura 1 (RIBEIRO, 2012).

Figura. 1 - Esquemática dos mecanismos neuroendócrinos no cérebro da tuvira.

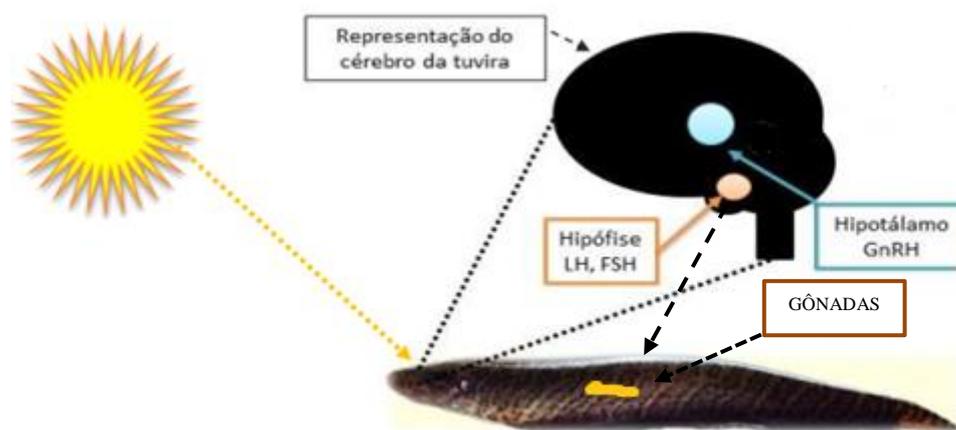


Imagem adaptada (Rosa 2015).

Diversos compostos (naturais ou sintéticos) são capazes de atuar no eixo endócrino em diferentes níveis estimulando a maturação final dos gametas através de vários mecanismos. Esses compostos atuam diretamente nos receptores de hormônios endógenos, simulando os efeitos da ação de hormônios naturais, gerando reações em cascata, que culminam na gametogênese (ZANIBONI e WEINGARTNER, 2007). Os principais hormônios utilizados para a indução hormonal em peixes são o extrato bruto da hipófise de carpas (EBHC), a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH).

Em tuiaras, o domínio de técnicas para induzir a reprodução em cativeiro é um dos principais entraves para que a criação dessa espécie se torne viável. Embora haja uma demanda crescente de tuiaras para a pesca amadora, até o momento, a produção em cativeiro não é uma realidade conforme os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística de 2015. Recentemente, Rosa (2015) avaliou a eficiência do EBHC, a gonadotrofina coriônica equina (ECG) e o GnRH em induzir o processo de maturação final dos testículos em tuiaras. Dentre esses, o análogo sintético do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH-a) apresentou os melhores resultados na promoção da maturação final das gônadas de machos. Porém, ainda não se sabe se o GnRH teria a mesma eficiência em induzir a maturação final das gônadas das fêmeas.

Para obter sucesso na reprodução em cativeiro é necessário realizar a seleção dos peixes maduros que apresentam maior probabilidade de responder positivamente ao processo de indução da maturação final e desova (CAROLSFELD, 1989; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). O processo de seleção das fêmeas consiste na escolha de exemplares que completaram a vitelogênese e que possuem gônadas no “período de dormência” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Os reprodutores de algumas espécies apresentam sinais externos expressivos que demonstram o estágio de maturação gonadal, como abdômen dilatado e macio, e a papila genital intumescida e avermelhada nas fêmeas; e liberação de esperma através de leve pressão abdominal ou emissão de sons e espículas nas nadadeiras dos machos (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1983).

Em tuiaras um dos principais entraves que não permite o sucesso na reprodução induzida em cativeiro é a sexagem dos animais, já que os mesmos não apresentam dimorfismo sexual. A sexagem só pode ser realizada com segurança no

gênero *Gymnotus* através da dissecação (CRAMPTON e HOPKINS, 2005) ou através da análise das descargas elétricas que emite (SILVA et al., 2003).

1.3 Técnicas de sexagem

Com a ausência de características externas para determinar o sexo da tuvira, algumas técnicas não invasivas de exame interno de gônadas estão sendo usadas, como o ultrassom. O uso da ultrassonografia está se tornando cada vez mais popular na avaliação dos aspectos reprodutivos dos peixes, uma alternativa aos outros métodos mais invasivos e complexos que podem comprometer a saúde dos peixes e seu sucesso reprodutivo (MOGHIM et al., 2002; WILDHABER et al., 2005). De acordo com Rotta (2007), a acurácia da determinação do sexo em tuviras maduras sexualmente através da análise das imagens de ultrassom é de 98%. No entanto, essa metodologia é cara, precisa de um especialista para a sua execução e um alto grau de experiência a fim de analisar as imagens, tornando a sua aplicação pelos produtores complicada. Além do ultrassom, outras técnicas têm sido utilizadas para a sexagem em peixes, como: a endoscopia, hormônios esteroides e métodos mais simples como a canulação e a punção abdominal.

A endoscopia é uma técnica pouca usada em peixes no Brasil, mas muito usada em vários países do mundo, principalmente, em espécies ameaçadas de extinção. O endoscópio é constituído por um tubo fino contendo fibras ópticas para transmitir a luz de uma fonte externa, para iluminação de órgãos internos que são vistos através de uma microcâmera de vídeo ou ocular ligado ao tubo (SWENSON et al., 2007). A identificação do sexo de peixes por endoscopia, também conhecida como celioscopia, se baseia na diferenciação macroscópica das estruturas reprodutivas, que são visualizadas inserindo-se o endoscópio através de uma pequena incisão abdominal, o que permite uma precisa avaliação tecidual e a classificação das gônadas como ovários ou testículos (STETTER, 2006). Essa metodologia já foi utilizada com sucesso em truta (*Salvelinus fontinalis*) (SWENSON et al., 2007), pirarucu (*Arapaima gigas*) (CARREIRO et al., 2012), esturjão (*Huso huso*) (FALAHATKAR et al., 2011), enguia europeia (*Anguilla Anguilla*) (MACRÍ et al., 2014) e surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) (CHAVES et al., 2015), com índices de acerto que variam de 94% a 100%. Da mesma forma que a ultrassonografia apresenta a desvantagem de ser uma técnica muito cara exigindo equipamentos sofisticados.

Outra possibilidade para a determinação de sexo em peixes é a avaliação da concentração de hormônios esteroides no sangue. Os principais produtos finais produzidos pela cascata enzimática durante a gametogênese e crescimento gonadal são: testosterona (T) e 11-ketotestosterona (11-KT) em machos, 17 β estradiol (E2) em fêmeas e o 17,20 β -trihidroxipregnenolona (17,20 β P) em ambos os sexos (NAGAHAMA, 2000). Em geral, pode-se considerar que, os andrógenos (T e 11-KT) e estrógenos (E2) são responsáveis por controlar a maturidade sexual em machos e fêmeas, respectivamente (KORTNER et al., 2008). Em fêmeas, a vitelogenina, proteína precursora da formação de ovócitos, é sintetizada no fígado graças ao hormônio 17 β -estradiol. Assim, a presença do hormônio 17 β -estradiol na corrente sanguínea pode funcionar como um padrão indicativo de sexo, com consequentemente intensificação dos caracteres sexuais secundários (CHU-KOO et al., 2008).

Em fêmeas de oscar (*Astronotus ocellatus*), Carvalho (2016) observou um predomínio considerável do E2 (6,40 ng/mL) em relação a T (1,23 ng/ml). Em fêmeas de esturjão (*Acipenser persicus*) sexualmente maduras, os níveis de E2 e T foram de 7 ng/mL e 0,13 ng/mL, respectivamente (VIAYEH et al., 2006). O nível elevado de E2 está intimamente relacionado à presença de ovócitos pré-vitelogênicos e vitelogênicos no ovário, típico de animais em maturação inicial e avançada. Em machos são encontrados níveis plasmáticos maiores de T em comparação as fêmeas. Nos machos, a principal função dos andrógenos é estimular a fase final da espermatogênese e espermiogênese, sendo níveis plasmáticos elevados de T e 11-KT comum em animais adultos (KORTNER et al., 2008). Embora a avaliação de hormônios esteroides possa ser utilizada como uma alternativa viável para determinação de sexo em peixes e os mesmos podem ser mantidos vivos após a coleta do sangue, essa metodologia depende de pessoas experientes e testes de ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) para a sua realização.

A biópsia pode ser realizada de duas maneiras: por canulação ou punção abdominal. Na canulação, um tubo plástico semi-rígido acoplado a uma seringa é introduzido por meio da abertura urogenital do peixe até alcançar a parte mediana das gônadas. Com o uso de uma pressão negativa aplicada na seringa ou até mesmo por sucção com a boca, o animal pode ser identificado pela coleta de sêmen ou ovócitos. Embora simples e barata, essa técnica também não pode ser aplicada em tuviras já que o poro urogenital é muito pequeno, tornando impossível a

canulação em tuviras. Outra alternativa é a biópsia via punção abdominal. No entanto, para aplicação com sucesso dessa metodologia, a localização exata das gônadas, do ponto de vista externo do animal, precisa ser conhecida. Para isso, uma dissecação detalhada de exemplares adultos em período reprodutivo é importante de forma a se conhecer com precisão o posicionamento interno das gônadas e a região externa correspondente a essa localização (SANTOS, 2013). Essa metodologia é interessante, pois é simples e barata e já foi aplicada com sucesso em grandes exemplares como o pirarucu (*Arapaima gigas*). Porém, para espécies de menor porte, como é o caso das tuviras, esse tipo de metodologia ainda não foi testada, mas pode ser uma alternativa viável, especialmente por não necessitar de nenhum equipamento caro. Pode ser realizada a campo, é de baixo custo e, ainda, não é necessário o sacrifício do animal para a observação gonadal.

Tendo em vista o crescente uso de tuviras como iscas vivas e o elevado preço comercial das mesmas, o interesse na criação dessa espécie tem aumentado. Além disso, a produção de tuviras em cativeiro é a única forma de manter e ou aumentar a produção de iscas vivas, haja vista a tendência cada vez maior de se diminuir a contribuição do extrativismo para a pesca esportiva/artesanal. Nesse sentido, há grande interesse no desenvolvimento de um pacote tecnológico para o desenvolvimento da criação de tuviras em cativeiro (ROTTA, 2004). Para isso, o passo inicial é a sexagem correta dos animais de maneira simples e barata para o estabelecimento apropriado de técnicas de indução hormonal.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo tem por objetivo verificar se a punção abdominal pode ser utilizada como uma técnica confiável para a identificação do sexo de tuviras adultas (*Gymnotus* sp.).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as características morfométricas de tuviras coletadas nos municípios da Barra do Quaraí - RS e Uruguaiana - RS;
- Descrever o local exato das gônadas;
- Avaliar o tamanho dos ovócitos das tuviras;
- Determinar a eficiência da punção abdominal na sexagem de tuviras;
- Verificar a taxa de sobrevivência das tuviras após a punção abdominal.

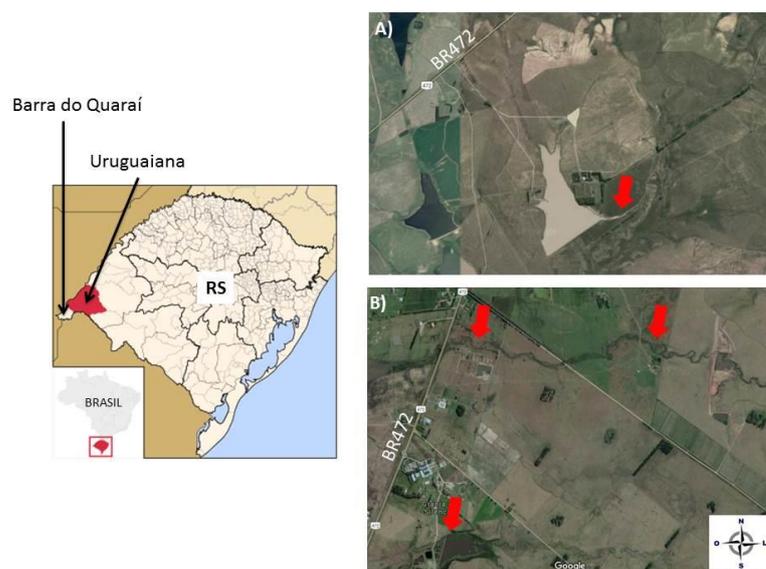
3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos realizados nesse estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIPAMPA - Campus Uruguiana com o protocolo número 051/2017.

3.1 Coleta dos animais e análises morfométricas

Para a execução deste trabalho, as tuviras foram coletadas em quatro pontos amostrais situados nos municípios da Barra do Quaraí-RS e Uruguiana-RS durante o período de novembro de 2016 a outubro de 2017. A coleta no ponto 1 ($30^{\circ}06'09.9''\text{S}$, $57^{\circ}16'31.5''\text{W}$) foi realizada numa barragem localizada a 46 Km do município de Uruguiana/RS, 25 Km da cidade da Barra do Quaraí/RS na BR 472 em direção ao município da Barra do Quaraí. A coleta no ponto 2 ($29^{\circ}50'11.0''\text{S}$, $57^{\circ}06'01.4''\text{W}$) foi realizada no Arroio Felizardo, localizado no interior da Universidade Federal do Pampa (Unipampa). A coleta no ponto 3 ($29^{\circ}49'14.1''\text{S}$, $57^{\circ}04'57.0''\text{W}$) foi realizada no Arroio do Vão do Meio localizado no interior do Circulo Militar e a coleta no ponto 4 ($29^{\circ}49'16.2''\text{S}$, $57^{\circ}05'49.6''\text{W}$) foi realizada no Arroio do Vão do Meio localizado no interior do Colégio Agrícola Municipal, conforme Figuras 2A e B.

Figura 2 – Localização dos pontos amostrais. A) Ponto 1 localizado na área rural do município da Barra do Quaraí-RS. B) Pontos 2, 3 e 4 localizados na área rural de Uruguiana - RS.



Fonte: Imagens retiradas do programa Google Earth – Google em 28/10/2017

Os animais foram coletados junto à macrófitas com uma tela retangular (2x1m) de nylon tipo mosquiteiro e peneiras metálicas circulares (1,2 m). As tuviras foram colocadas em baldes de 20 litros e levadas ao Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura (CTPA) da Unipampa - Campus Uruguaiana para a realização das biometrias. No CTPA, o comprimento total (C) que é a distância, em centímetros, entre o focinho e a extremidade posterior das tuviras foi medido com um ictiômetro e o peso total (P) em gramas foi avaliado com balança analítica digital.

Para a relação peso-comprimento foi aplicada a fórmula: $P=aC^b$, onde P corresponde ao peso, C, ao comprimento, a, ao fator relacionado com o grau de engorda dos indivíduos e b, ao coeficiente de alometria, relacionado com a forma do crescimento dos indivíduos. Os valores de a e b foram estimados a partir do método dos mínimos quadrados (modelo preditivo), após transformação logarítmica na base neperiana da seguinte equação: $\ln P = \ln a + b \ln C$. O fator de condição (K) foi calculado através da expressão $K=P/C^b$ (SANTOS, 1978; BRAGA, 1986).

Após as biometrias, as tuviras foram mantidas em tanques de concreto (2m x 2m x 1m; LxCxP) no CTPA, para posteriormente serem utilizadas nos estudos de sexagem. Para facilitar a adaptação das tuviras, macrófitas aquáticas (*Eichhornia crassepes*) foram colocadas nos tanques. Durante o período que as tuviras foram mantidas nos tanques, elas foram alimentadas “*ad libitum*” uma vez ao dia, ao entardecer com filé de peixe. Para verificar se as tuviras estavam se alimentando em cativeiro, os filés de peixes foram colocados em bandejas e essas foram posicionadas a 30 cm do fundo do tanque.

3.2 Determinação da localização das gônadas e avaliação do tamanho dos ovócitos

Cinco tuviras adultas foram previamente dissecadas para determinar a localização exata das gônadas no interior da cavidade celomática e, conseqüentemente, avaliar a região externa onde deveria ser realizada a punção abdominal. Esse experimento foi realizado no fim de setembro de 2017. De acordo com Resende et al. (2006), as tuviras podem alcançar a primeira maturidade sexual aos 14 cm, no entanto, após os 20 cm de comprimento cerca de 95% das tuviras apresentam as gônadas maduras. Dessa forma, para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizadas tuviras acima dos 20 cm de comprimento.

Para o uso do eugenol, esse foi primeiramente diluído em álcool etílico (92,8°), o que resultou em solução estoque na proporção de 100 mg/mL. Para a dissecação, as tuviras foram eutanasiadas com overdose de eugenol (450 mg/L) e os dados de peso e comprimento foram avaliados (PALLAMIN, 2014). Após a eutanásia, os animais foram dissecados com o auxílio de um bisturi. Com a exposição dos órgãos, o local exato das gônadas foi determinado e alguns parâmetros foram medidos, com um paquímetro digital, para facilitar posteriormente a punção abdominal. Os parâmetros medidos foram: distância da cabeça ao centro das gônadas, tamanho das gônadas e espessura do tecido muscular. No caso das fêmeas, os ovários foram coletados e armazenados em álcool 70% para determinar o diâmetro dos ovócitos.

O Microscópio Estereoscópio Trinocular (Nova, ZTX-T) foi utilizado para observar e medir o diâmetro dos ovócitos, que foram fotografados com uma câmera de 3 MP, através do programa Toup Tek Toup View, versão x 86,3.7.3515 no Laboratório do Curso de Aquicultura. Foram analisados 100 ovócitos para cada fêmea.

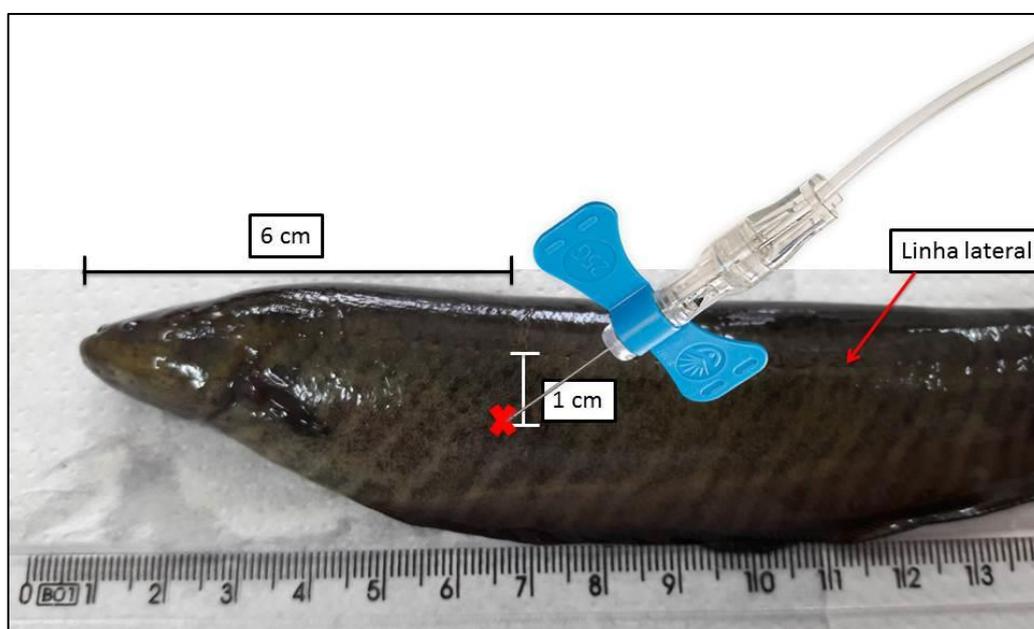
3.3 Punção abdominal

Para a identificação do sexo via punção abdominal, as tuviras foram retiradas dos tanques e transportadas em baldes de 20 L ao laboratório do CTPA no fim de outubro. No laboratório, os animais foram anestesiados com eugenol na concentração de 80 mg/L em recipientes de 5 L contendo água do próprio tanque em que os animais estavam sendo mantidos. O tempo de anestesia para cada indivíduo foi registrado com a finalidade de verificar se há diferenças entre machos e fêmeas durante esse processo. Os animais foram considerados anestesiados quando perderam completamente o equilíbrio e apresentaram incapacidade de retornar a posição correta de natação conforme descrito por WOODY et al., (2002). Após a anestesia, cada animal teve o comprimento total (cm) medido com um ictiômetro e o peso total (g) avaliado com uma balança analítica digital. Para esse experimento foram selecionados 24 animais que apresentaram o comprimento médio de 24 ± 3 cm e peso médio de 43 ± 17 g.

A realização da punção abdominal foi baseada nas informações obtidas da dissecação prévia dos animais. Com base nessas informações, o local escolhido para a realização da punção abdominal foi 6 cm distante da ponta da cabeça do

animal e 1 cm abaixo da linha lateral conforme ilustrado na Figura 3. A punção foi realizada com um dispositivo de infusão intravenosa escalpe (número 19G, diâmetro interno da agulha 1,1 mm) conectado a uma seringa de 5 mL. Para facilitar a introdução do dispositivo algumas escamas foram retiradas. A agulha foi introduzida formando um ângulo entre 40 e 45° em relação ao corpo da tucuna, o que facilitou a sua penetração até alcançar a parte mediana da cavidade celomática. Nessa posição, foram realizadas pressões negativas na seringa, para coletar fragmentos e amostras de tecido gonadal para confirmação do sexo do animal.

Figura 3 – Local onde foi realizada a punção abdominal nas tucunas.



Fonte: Arquivo pessoal

As amostras de tecidos coletadas (ovócitos ou sêmen) foram colocadas em microtubos contendo álcool 70% para posterior análise microscópica. Após a punção, o dispositivo de infusão intravenosa foi substituído por um novo material entre cada indivíduo. O tempo de procedimento foi cronometrado para todos os indivíduos levando em consideração o processo de biometria e punção abdominal.

Após o procedimento, os animais foram separados em dois grupos de acordo com a sexagem: animais que tiveram ovócitos coletados (fêmeas) e animais em que foram coletados sêmen ou nenhum fragmento das gônadas (machos). Cada grupo foi colocado em recipientes de 20 L contendo água do próprio tanque até a completa recuperação. Posteriormente, os animais foram submetidos a tratamento de permanganato de potássio na concentração de 2.5 mg/L durante 10 min. Em

seguida, os machos e fêmeas foram colocados em tanques rede diferentes (0,6m x 0,8 m x 1m; LxCxP). Esses tanques foram alocados no mesmo tanque onde as tuviras foram coletadas.

Para avaliar se o procedimento da punção abdominal não causou nenhum problema aos animais, a sobrevivência das tuviras foi monitorada durante 96 hs. Para isso, as tuviras foram observadas a cada 24 hs, sempre ao final da tarde, momento em que também eram alimentadas com filé de peixe. Os tanques redes eram cuidadosamente suspensos para observar, se havia animais mortos, debilitados ou se apresentavam natação errática.

3.4 Dissecção dos animais para confirmação dos resultados

Após o período de 96 horas, os animais foram retirados dos tanques rede e colocados separados em dois baldes com água e transportados ao laboratório. Os animais foram eutanasiados individualmente com overdose de eugenol (450 mg/L). Posteriormente, os animais foram medidos, pesados e dissecados com o auxílio de um bisturi, através de uma incisão ventral, da base do opérculo até a nadadeira caudal, para a confirmação do sexo. Com a cavidade celomática exposta, foi observado se havia a presença de ovários no caso das fêmeas, ou testículos no caso dos machos. As gônadas foram retiradas e pesadas com uma balança analítica para determinar o índice gonadossomático. O índice gonadossomático (IGS) foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$IGS = Wg/Wt \times 100$ onde, Wg é o peso da gônada e Wt é o peso total do peixe.

3.5 Análises Estatísticas

Para avaliar se houve diferenças entre machos e fêmeas no tempo de anestesia e tempo de procedimento cirúrgico o Teste t de Student foi utilizado. O nível de 5% de significância foi adotado para indicar diferenças significativas. Os dados estão representados como média±desvio padrão.

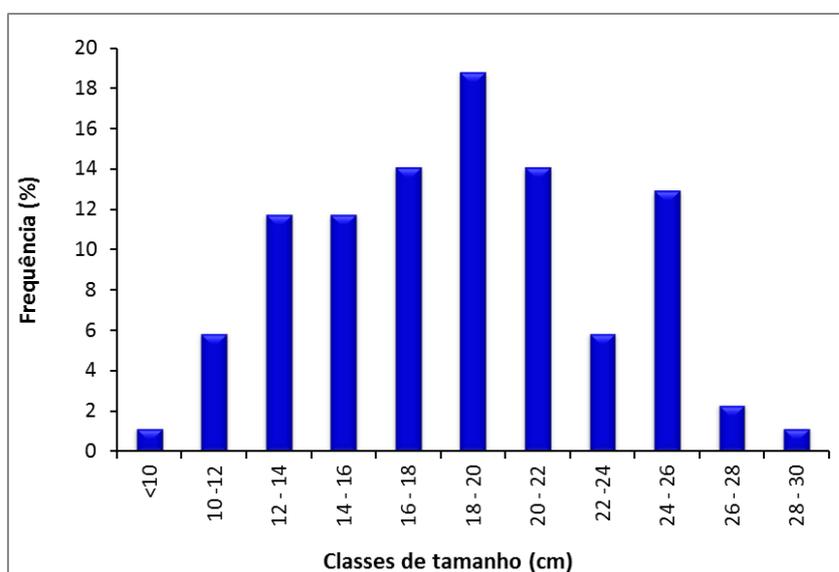
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises morfométricas

No ponto 1 foram coletadas 42 tuviras em novembro de 2016. No ponto 2 foram coletadas 7 tuviras nos meses de novembro de 2016 a fevereiro de 2017, no

ponto 3 foram coletadas 34 tuviras em setembro e outubro de 2017 e no ponto 4 foram coletadas 2 tuviras em outubro de 2017, totalizando 85 tuviras. As tuviras capturadas mediram entre 7,8 cm e 28,2 cm de comprimento total e peso total entre 1,78 g e 66,8 g. De acordo com Resende et al. (2006) as tuviras podem chegar a primeira maturação sexual a partir do tamanho de 14 cm, porém alcançam a maturidade gonadal plena aos 24 cm. No presente trabalho, 19% das tuviras capturadas apresentaram tamanho maior que 24 cm, sendo que a frequência de tamanho mais observado foi entre 18 e 20 cm (Figura 4).

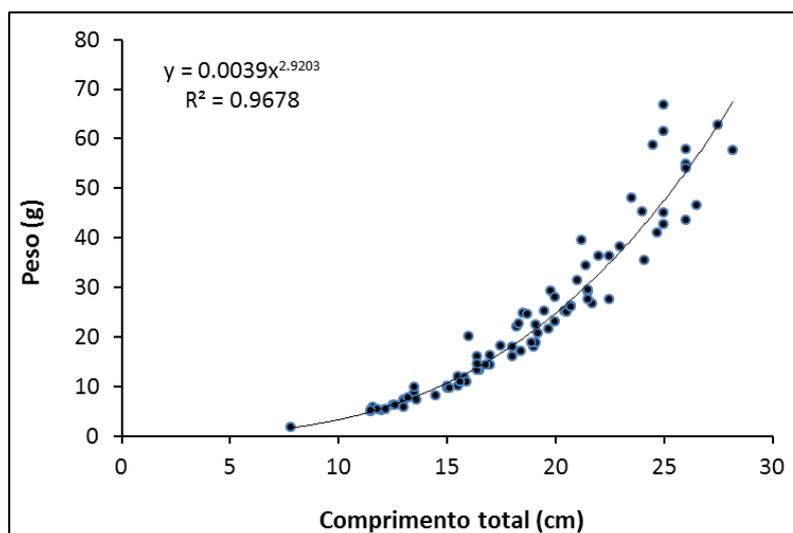
Figura 4 - Distribuição da frequência relativa das classes de tamanho das tuviras capturadas no município da Barra do Quaraí-RS e Uruguaiana-RS.



A relação peso-comprimento é uma ferramenta importante e eficiente para evidenciar mudanças na condição dos peixes ao longo do ano, podendo ser usada para indicar o período reprodutivo, períodos de alterações alimentares e de acúmulo de gordura (GOMIERO & BRAGA 2003, 2005, 2006). Além disso, quando a relação peso-comprimento é conhecida para uma determinada população de peixe, estimativas do peso dos indivíduos podem ser estimadas facilmente em pesquisas a campo através apenas da análise do comprimento (JOBILING, 2002; TAVARES-DIAS et al., 2006). No presente estudo, a relação peso-comprimento foi determinada de acordo com a equação $P=0.0039C^{2.9203}$ ($R^2=0.9678$; Figura 5). Em geral, os valores de b se aproximam de 3,0 o que foi verificado no presente estudo, caracterizando o crescimento alométrico desta espécie. LE CREN (1951) afirma que

os valores de b variam de 2,0 a 4,0, assumindo o valor 3,0 para um "peixe ideal", que mantém a mesma forma durante o crescimento ontogenético. Valores inferiores ou superiores a 3,0 indicam indivíduos que, ao longo do crescimento, se tornam mais "longilíneos" ou "redondos", respectivamente.

Figura 5 - Relação peso-comprimento das tuviras capturadas no município da Barra do Quaraí - RS e Uruguaiana - RS



Com relação ao fator de condição, observou-se uma alta variação entre os indivíduos que foi de 0.0027 a 0.0053. Para tuviras menores que 14 cm, o fator de condição médio foi 0.0034. Esse mesmo valor foi observado para tuviras que compreenderam o tamanho entre 14 cm a 24 cm e para os animais que apresentaram comprimentos maiores do que 24 cm. Em geral, indivíduos jovens apresentam altos valores de fator de condição o que não foi evidenciado no presente estudo, já que não houve diferenças no fator de condição entre os indivíduos que não atingiram o comprimento da primeira maturação sexual com aqueles que já tinham atingido esse tamanho.

4.2 Determinação da localização das gônadas e avaliação do tamanho dos ovócitos

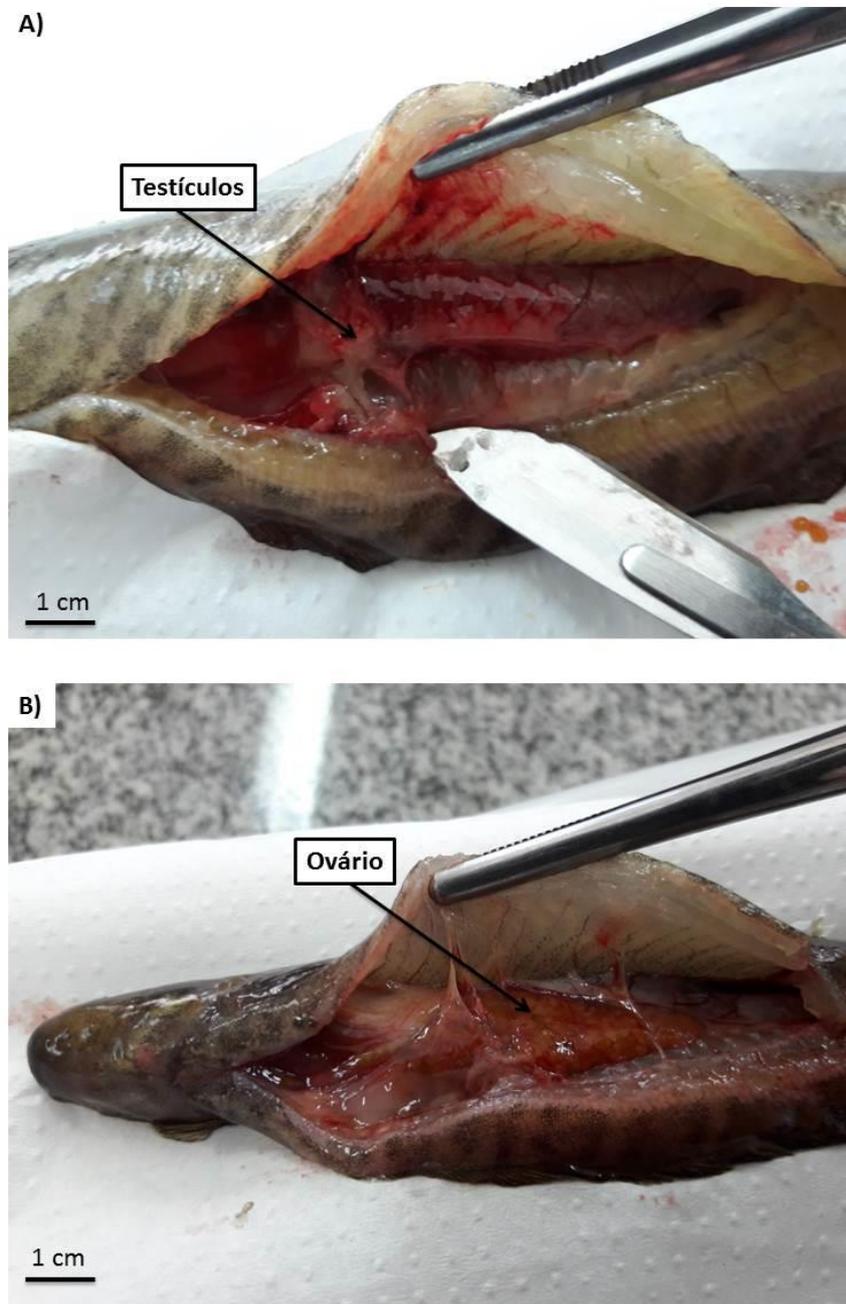
Para avaliar a localização das gônadas nas tuviras para posteriormente realizar a punção abdominal, cinco animais foram dissecados. Desses, três foram machos com peso médio de $50 \pm 3,4$ g e comprimento médio de $24,9 \pm 2,62$ cm e duas fêmeas com peso médio de $38,39 \pm 9,9$ g e comprimento médio de $22,5 \pm 2,83$ cm. A

distância média da cabeça ao início das gônadas foi determinada em $5,21 \pm 1,16$ cm para ambos os sexos. Essa distância serviu para estabelecer em que posição a agulha poderia ser penetrada no animal sem prejudicar os órgãos internos. A espessura média do tecido muscular foi de $3,65 \pm 0,47$ mm.

De acordo com a dissecação, as gônadas dos machos estão localizadas na extremidade caudal das vísceras, são órgãos pareados, com dois longos tubos finos. Apresentaram-se pouco desenvolvidas, e o comprimento médio foi de $30,6 \pm 2,5$ mm (Figura 6A). Embora a dissecação dos animais tenha sido realizada no início do período reprodutivo (outubro), a identificação macroscópica do testículo não é fácil como foi apontado por Cognato e Fialho (2006). Devido à estratégia reprodutiva das tuviras, a gônada masculina não sofre muitas alterações durante o período reprodutivo, já que as fêmeas desovam parceladamente e produzem um número reduzido de ovócitos durante a época reprodutiva (RESENDE et al., 2006). Vergílio et al. (2013) realizaram a caracterização dos testículos e a morfologia dos espermatozoides de tuviras (*Gymnotus carapo*) durante o período reprodutivo e verificaram que o índice gonadossomático foi de $0.070 \pm 0.002\%$, indicando o tamanho reduzido das gônadas masculinas.

Diferentemente dos testículos, o ovário das fêmeas foi visível macroscopicamente e teve um comprimento médio de 33.9 ± 9.6 mm (Figura 6B), embora os animais tenham sido dissecados no dia 20 de outubro de 2017, início do período reprodutivo. A observação macroscópica do ovário mostrou que ele é ímpar e se estende ao longo da porção tubular da cavidade celomática, junto à bexiga natatória conforme já havia sido descrito por Menin (1989). Além disso, observou-se que o ovário é mais desenvolvido próximo a região celomática e na medida em que a gônada avança em direção a região posterior do animal, a espessura do ovário diminui (Figura 6B). Considerando, em especial, a disposição da gônada feminina, optou-se por realizar a punção abdominal conforme indicado na Figura 3, já que é a região em que o ovário apresenta a maior espessura e isso, teoricamente, facilitaria a coleta de amostras de ovócitos.

Figura 6 – Aspecto geral das gônadas das tuviras (*Gymnotus* sp.). A) Localização dos testículos em relação aos demais órgãos. B) Localização do ovário na cavidade celomática.

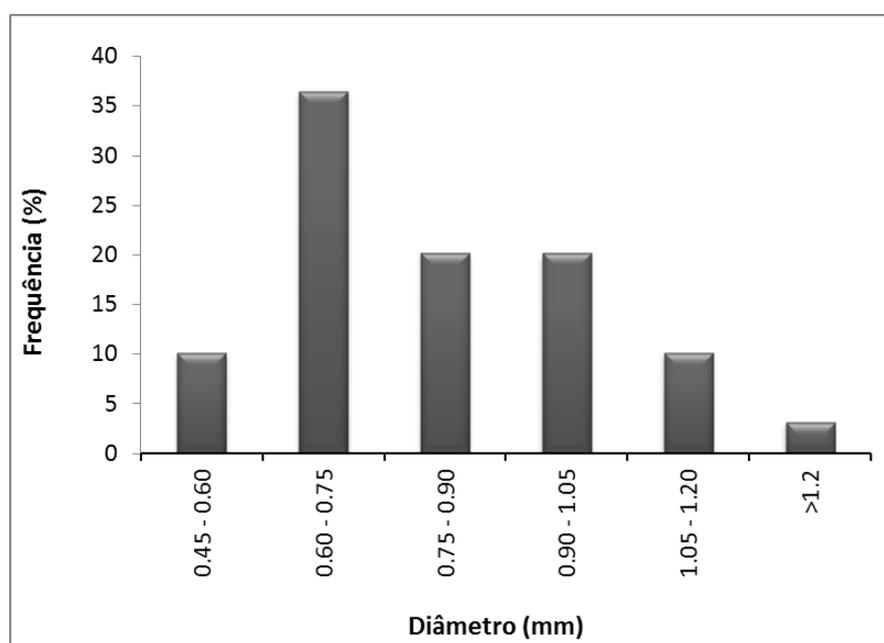


Fonte: Arquivo pessoal

O diâmetro variou de 0.34 mm a 1.15 mm, sendo que 36% dos ovócitos apresentaram o tamanho entre 0.60 a 0.75 mm, conforme ilustrado na Figura 7. A variação no diâmetro indica que os ovócitos encontram-se em fases diferentes de maturação e que a espécie apresenta desova parcial conforme já foi documentado

(RESENDE, 1999; BARBIERI & BARBIERI, 1981, 1982c, 1985). De acordo com o diâmetro dos ovócitos, as tuviras dissecadas no presente estudo estavam no início do período reprodutivo, já que no auge da estação o diâmetro dos ovócitos atinge 3 mm (VAZZOLER, 1996). O estudo do diâmetro dos ovócitos serviu para escolher o tamanho da agulha a ser utilizada no momento da punção abdominal. Assim, optou-se por usar o dispositivo de infusão intravenosa escalpe (19 G) em que o diâmetro interno da agulha é 1.1 mm.

Figura 7 - Distribuição da frequência relativa do diâmetro dos ovócitos medidos quando as tuviras foram dissecadas.

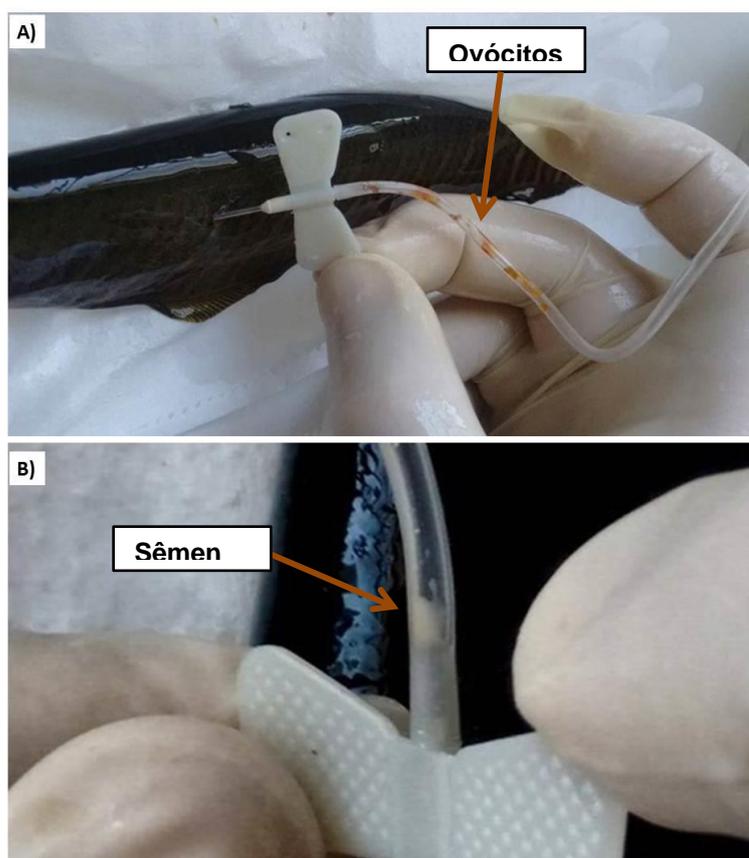


4.3 Punção abdominal

O tempo de anestesia dos machos variou de 75 a 202 segundos, e o tempo médio foi de $121,26 \pm 34,4$ segundos, considerando a perda total do equilíbrio. Para as fêmeas, o tempo de anestesia variou de 80 a 168 segundos e o tempo médio foi de $110,5 \pm 32,83$ segundos. Não foi observada diferença estatística no tempo de anestesia entre machos e fêmeas ($P > 0,05$). Para juvenis de tilápia com peso médio de 55 g, a perda total de equilíbrio foi atingida em 158.9 segundos na concentração de 80 mg/L de eugenol (SIMÕES et al., 2012). Tempo similar ao observado para as tuviras no presente trabalho. De acordo com Roubach & Gomes (2001), o tempo ideal de anestesia profunda deve ser atingido entre 1 a 3 minutos, sendo o tempo observado no presente estudo.

Após a anestesia, a punção abdominal foi realizada em 24 animais, sendo que oito indivíduos foram identificados como fêmeas, já que foi possível coletar amostras de ovócitos conforme ilustrado na Figura 13A. Foram coletados de três a 12 ovócitos por fêmea através da punção abdominal e o diâmetro dos ovócitos coletados variou de 0.49 a 0.82 mm. Os outros 16 animais foram considerados machos. Na grande maioria dos machos não foi possível coletar nenhuma amostra do tecido gonadal. Apenas em três animais foi possível coletar amostra de sêmen (Figura 13B), o que pode estar relacionado ao tamanho reduzido das gônadas masculinas, dificultando a coleta de sêmen (RESENDE, 2006; VERGÍLIO et al., 2013).

Figura 13 – Punção abdominal para extração do material gonadal. A) Amostra de ovócitos sendo coletadas de uma fêmea. B) Amostra de sêmen coletada de um macho.



Fonte: Arquivo pessoal

Em tuviras, a sexagem dos machos através do ultrassom foi realizada por exclusão, visto que não foi possível a identificação da estrutura dos testículos nas imagens, já que os testículos dos peixes não mantêm um padrão no ultrassom

(CREPALDI, 2007). É importante mencionar que antes da realização da punção abdominal, uma massagem abdominal foi realizada, porém em nenhum indivíduo foi possível coletar sêmen através dessa metodologia.

O tempo de procedimento foi cronometrado para todos os indivíduos levando em consideração o processo de biometria e punção abdominal. O tempo de procedimento dos machos variou de 124 a 328 segundos, e o tempo médio foi de $222,16 \pm 70,7$ segundos. Nas fêmeas o tempo variou de 98 a 309 segundos e o tempo médio foi de $160,8 \pm 65,38$ segundos. O tempo de procedimento foi significativamente maior nos machos do que nas fêmeas ($P < 0,05$). Isso está relacionado ao maior número de tentativas (três a quatro vezes) para realizar a coleta de algum tipo de material gonadal no procedimento cirúrgico.

Após a punção abdominal, a sobrevivência dos indivíduos foi monitorada durante um período de 96 hs. Durante esse período a taxa de sobrevivência foi de 100%, já que não foi constatada nenhuma mortalidade para nenhum dos grupos (machos ou fêmeas). Além disso, nenhum hematoma foi observado no local da punção abdominal após 96 hs e o mesmo já se encontrava em fase de cicatrização, conforme Figura 14. Isso demonstra que a punção abdominal embora seja uma técnica invasiva, o dano causado ao animal é mínimo já que a sobrevivência foi de 100%.

Figura 14 – Local onde foi realizada a punção abdominal após 96 horas.



Fonte: Arquivo pessoal

4.4 Dissecação dos animais para confirmação dos resultados

Após as 96 hs, todos os indivíduos foram dissecados para confirmação dos resultados. Através da dissecação verificou-se que dos 24 animais avaliados, 22

indivíduos foram sexados corretamente através da punção abdominal, sendo o grau de acerto de 91,66%. Dois indivíduos que haviam sido considerados machos, no momento da dissecação verificou-se que eram fêmeas devido à presença de ovário. Para ambos os indivíduos, o diâmetro médio dos ovócitos foi de $1,37 \pm 0.46$ mm e $1,37 \pm 0.35$ mm. Para o primeiro indivíduo, 72% dos ovócitos apresentaram diâmetro superior a 1.1 mm enquanto para o segundo indivíduo 89% dos ovócitos foram maiores do que 1.1 mm. Isso deve ter prejudicado a sexagem desses dois animais, já que o diâmetro interno da agulha utilizada durante a punção abdominal foi de 1.1 mm.

Nos últimos anos pesquisas têm sido realizadas para a identificação dos sexos em tuviras, já que as mesmas não apresentam dimorfismo sexual. Em 2000, Ushizima & Bock testaram o tamanho relativo do orifício genital em relação ao tamanho do orifício anal e obtiveram uma acurácia com essa metodologia de 84%. No entanto, essa metodologia só funciona durante o auge do período reprodutivo e, além disso, é difícil comparar o tamanho dos orifícios devido à similaridade dos mesmos. Em 2004, Rotta et al. avaliaram o uso de ultrassom para identificar o sexo de tuviras maduras sexualmente e obtiveram um grau de acerto de 98%. No entanto, essa metodologia depende de um equipamento caro e uma pessoa especializada para interpretar a imagem. No presente estudo, o grau de acerto foi de 91,66%, demonstrando que a punção abdominal pode ser uma alternativa viável em relação ao uso do ultrassom para a determinação do sexo de tuviras maduras sexualmente. Além disso, a punção abdominal tem a vantagem já que é uma técnica simples, barata e pode ser aplicada por qualquer pessoa que receba um treinamento mínimo. Em 2013, Santos et al. em um ensaio preliminar diagnosticaram que essa metodologia poderia ser viável para determinação do sexo em pirarucu. No entanto, para nosso conhecimento essa é a primeira vez que essa metodologia é usada de maneira eficaz para uma espécie de pequeno porte como a tuvira.

Após a dissecação e confirmação dos resultados da sexagem, as gônadas dos animais foram retiradas para o cálculo do IGS, exceto para alguns machos, já que não foi possível definir macroscopicamente as gônadas. Nas fêmeas o índice variou de 2,73 a 7,71%, sendo a média de $5,76 \pm 1,56\%$, enquanto nos machos o IGS variou de 0,19 a 0,44, sendo a média de $0,33 \pm 0,13\%$. Cognato e Fialho (2006) avaliaram o período reprodutivo de *Gymnotus carapo* de um pequeno lago no

Parque Estadual de Itapuã, Rio Grande do Sul, Brasil e no auge do período reprodutivo (novembro a março) verificaram que o IGS médio das fêmeas chegou a 6%, enquanto dos machos não ultrapassou 0.4%. Dessa forma, os índices observados no presente estudo indicam que as tuviras utilizadas no experimento de sexagem estavam em período reprodutivo.

De maneira geral, os dados obtidos neste estudo devem contribuir para o melhor entendimento da biologia dessa espécie e, além disso, devem ser úteis para a sexagem de tuviras adultas, facilitando o estabelecimento de um futuro protocolo de reprodução induzida para essa espécie.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho através das análises morfométricas estabeleceu uma ótima relação entre peso e comprimento com um R^2 chegando a 0.96. Para futuras coletas a fórmula $P=0.0039C^{2.9203}$ poderá ser utilizada facilmente a campo para estabelecer o peso das tuviras amostradas.

Os dados da dissecação prévia permitiram estabelecer o local exato para a realização da punção abdominal. A punção realizada a 6 cm distante da ponta da cabeça do animal e cerca de 1 cm abaixo da linha lateral foi eficiente para coletar amostras de tecido gonadal e da mesma forma não comprometeu a saúde dos animais, o que pode ser observado pelo alto índice de sobrevivência. Para evitar a contaminação dos animais com algum patógeno, a substituição da agulha e a utilização de material estéril são imprescindíveis a cada nova punção, já que a técnica é invasiva.

A punção abdominal, durante o período reprodutivo das tuviras (*Gymnotus* sp.), é uma técnica viável, simples, econômica e que pode ser realizada a campo. Diferente de outros métodos de sexagem, não é necessário nenhum equipamento sofisticado e oneroso ou pessoa altamente qualificada. A acurácia determinada neste estudo foi de 91,66%. No entanto, os resultados ainda poderiam ter sido melhores, caso tivéssemos optado por um diâmetro de agulha maior. Porém, isso também poderia ter afetado a sobrevivência das tuviras. Acreditamos que o ideal é realizar a punção abdominal no início do período reprodutivo, assim, não é necessário o uso de agulhas com diâmetro muito grande e, conseqüentemente, a taxa de sobrevivência será elevada.

A identificação do sexo em tuviras é de grande relevância para a reprodução em cativeiro, uma vez que, identificados machos e fêmeas os mesmos poderão ser identificados com chips para o estabelecimento do plantel de reprodutores.

A produção em cativeiro vai reduzir o impacto ambiental causado pelo extrativismo, poderá servir como uma nova fonte de renda e melhorar as condições de trabalho dos isqueiros. Para isso novos estudos se fazem necessário para o aprimoramento desta técnica e melhor compreensão da biologia reprodutiva das tuviras, visto que os dados permanecem escassos e raros na literatura.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, S.P.; CAMPOS, F.L. da; CATELLA, A.C. Sistema de Controle da Pesca de Mato Grosso do Sul SCPECA/MS-9- 2002. Corumbá: Embrapa Pantanal (Embrapa Pantanal. **Boletim de Pesquisa**, 47). 2003.

BARBIERI, G.; BARBIERI, C.B. Tipo de desova e fecundidade de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) da represa do Lobo, Estado de São Paulo. (Pisces, Cypriniformes). In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 33., 1981, Salvador. **Anais...** Salvador: Universidade Federal da Bahia, 1981. v.33, n.7, p.506.

_____. Estudo do ciclo reprodutivo de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758), na represa do Lobo, Estado de São Paulo (Pisces, Gymnotidae). In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 34., 1982, Campinas. **Anais...** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1982a. v.34, n.7, p.557.

_____. Crescimento e tamanho de primeira maturação sexual de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758), na represa do Lobo, Estado de São Paulo (Pisces, Ostariophysi, Gymnotidae). In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 34., 1982, Campinas. **Anais...** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1982b. v.34, n.7, p.557

_____. **Fecundidade e tipo de desova de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo, Estado de São Paulo** (Pisces, Gymnotidae). *Spectrum* (J. Bras. Ci.), v.2, n.7, p.25-29, 1982c.

_____. Growth and first sexual maturation size of *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) in the Lobo reservoir (state of São Paulo, Brazil) (Pisces, Gymnotidae). **Revue d' Hydrobiologie Tropicale**, v.16, n.2, p.195-201, 1983a.

_____. Dinâmica da reprodução de *Gymnotus carapo* na represa do Lobo, estado de São Paulo. Influência de fatores abióticos. (Pisces, Gymnotidae). **Tropical Ecology**, v.24, n.2, p.244-259, 1983b.

_____. Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de testículo. Variação sazonal. (Pisces, Gymnotidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.44, n.2, p.141-148, mai. 1984a.

_____. Crescimento de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo, Estado de São Paulo, pelo método da distribuição da frequência de comprimento (Pisces, Gymnotidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.44, n.3, p.239-246, ago. 1984b.

Barbieri, G. & M.C. Barbieri. Note on nutritional dynamics of *Gymnotus carapo* (L.) from the Lobo reservoir, São Paulo State, Brazil. **Journal of Fish Biology**, v.24, p.351-355, 1984c.

_____. Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de ovário. Variação sazonal. (Teleostei, Gymnotidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.45, n.1/2, p.3-12, fev./mai. 1985.

BRAGA, F.M.S. **Estudo entre fator de condição e relação peso-comprimento para alguns peixes marinhos**. Braz. J. Biol. v. 46, n. 2, p. 339-346. 1986.

BRASIL: **Censo aquícola nacional, ano 2008**. Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). Brasília: República Federativa do Brasil. 2013.

BRASIL. Lei nº 11.959, de 29 de junho de 2009. Dispõe sobre a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca, regula as atividades pesqueiras. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Edição nr 122, 30 jun. 2009. Seção 1, parte 1, p. 1.

BRASIL. **Turismo de pesca: orientações básicas**. 2.ed. Brasília: Ministério do Turismo, 2010. 58 p.; 24 cm.

CAROLSFELD J. Reproductive physiology and induced breeding of fish as related to culture of Colossomas. In: Hernandez A. **Cultivo de Colossoma**. Bogotá: Editora Guadalupe, 1989. p.37-73.

CARREIRO, C. R. P.. **Inovações tecnológicas na sexagem, manejo reprodutivo e crescimento do pirarucu, *Arapaima gigas*** (SCHINZ, 1822), (Actinopterygii, Arapaimidae) cultivado no Centro de Pesquisas em Aquicultura Rodolpho von Ihering (CPA) do DNOCS, Pentecoste, Estado do Ceará. 2012. 153 f.: il, enc.; 30 cm.

CARVALHO, A. F. S. de. **Identificação do sexo em *Astronotus ocellatus* : aspectos comportamentais, hormonais e moleculares**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2016. 144 p.

CASCIOTTA, B. J. et. al,. The genus *Gymnotus* (Gymnotiformes: Gymnotidae) in Argentina. How badtaxonomy results in poor regulations and no conservation. **Journal Applied Ichthyology**. n. 29, p. 208-212. 2013.

CHAVES G.V. et al. Coelioscopy technique for gender in surubim hybrid *Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*. **Aquaculture Research**, v.46, p.1007-1012. 2015.

CHU-KOO, F. et al. Determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 *b*-estradiol, and 11-ketotestosterone levels. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, p. 125 – 136. 2008.

COGNATO, D. de P.. **Biologia Reprodutiva de Gymnotus aff. Carapo Linnaeus, 1758 (Teleostei: Gymnotidae) do Parque Estadual de Itapuã**. UFRGS, 2005. p.73. Porto Alegre, 2005.

_____. Reproductive biology of a population of *Gymnotus* aff. *carapo* (Teleostei: Gymnotidae) from southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 4, n. 3, p. 339-348. 2006.

CRAMPTON, W. G. R.; HOPKINS, C. D. **Nesting and paternal care in the weakly electric fish *Gymnotus* (Gymnotiformes: Gymnotidae) with descriptions of larval and adult electric organ discharges of two species**. *Copeia*, n. 1, p. 48-60. 2005.

CREPALDI, D. V.; ROTTA, M. A.. **Uso do ultrassom em programas de reprodução de peixes nativos**. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007. 6p.

FABRI, J. B. Pesca. In: DACOSTA, L. P. (Org.). **Atlas do esporte no Brasil**. Rio de Janeiro: Shape. p. 393-396. 2006.

FALAHATKAR A, G. M., FALAHATKAR S, ABBASALIZADEH A. Laparoscopy, a minimally-invasive technique for sex identification in cultured great sturgeon *Huso huso*. **Aquaculture Research**, v.321, p.273-279. 2011.

GERVÁSIO, M. S. P.. **Uso e conservação de recursos naturais relacionados com a pesca desportiva e a exploração de iscas vivas no pantanal mato-grossense**, Campo Grande, v. 10, n. 1, p. 181 – 194. 2006.

GOMIERO, L.M. BRAGA, F.M.S. Relação peso-comprimento e fator de condição para *Cichla* cf. *ocellaris* e *Cichla monoculus* (Perciformes, Cichlidae) no reservatório de Volta Grande, Rio Grande-MG/SP. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v.25, n.1, p. 79-86. 2003.

_____. The condition factor of fishes from two river basins in São Paulo State, Southeast of Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**. Maringá, v. 27, n. 1, p. 73-78. 2005.

_____. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Brycon opalinus* (Pisces, Characiformes) no Parque Estadual da Serra do Mar - Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**. v. 28, n. 2, p.135-141. 2006.

IWASZKIW, J. M. et al. Aportes a la biología de *Gymnotus omarorum* (Teleostei) de la Laguna Blanca, Parque Nacional Río Pilcomayo, Formosa: estado de condición, desarrollo gonadal y temporada reproductiva. **Revista del Museo Argentino y Ciencias Naturales**,. Buenos Aires Argentina. v. 18, n. 2, p. 201-210. 2016.

JOBLING, M. 2002. Environmental factors and rates of development and growth, pp.97-122. In: Hart, P.J.B.; Reynolds, J.D. (eds). **Handbook of fish biology and fisheries. Fish biology**. Blackwell, USA. 413p.

KORTNER, T. M. et al. Genomic approach in evaluating the role of androgens on the growth of Atlantic cod (*Gadus morhua*) previtellogenic oocytes. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part D: genomics and proteomics, Oxford, v. 3, n. 3, p. 205–218, Sept. 2008.

LE-CREN, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). **The Journal of Animal Ecology**. v. 20, n. 2, p. 201-219, 1951.

MACRÍ F, et al. Coelioscopic investigation in european eels (*Anguilla anguilla*). **Journal of Exotic Pet Medicine**, v.23, p.147-151, 2014.

MENIN, E. Anatomia funcional da cavidade bucofaringeana de *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 (Siluriformes, Gymnotoidei, Gymnotidae). **Revista Ceres**, v.36, n.207, p.422-434, 1989a.

_____. Anatomia funcional do tubo digestivo de *Gymnotus carapo* Linnaeus, 1758 (Siluriformes, Gymnotoidei, Gymnotidae). **Revista Ceres**, v.36, n.207, p.435-457, 1989b.

MOGHIM, M.; VAJHI, A. R.; VESHKINI, A.; MASOUDIFARD, M. Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by using ultrasonography. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 18, n. 4-6, p. 325-328, 2002.

NAGAHAMA, Y. Gonadal steroid hormones: major regulators of gonadal sex differentiation and gametogenesis in fish. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF FISH, 6., 2000, Bergen. **Proceedings...** Bergen: Institute of Marine Research and University of Bergen, 2000. p. 211-222.

PALLAMIN, R. T. **Anestesia e toxicidade aguda do eugenol aplicado em juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen***. 2014. 21 f. Dissertação (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, 2014.

PEREIRA, R. A. C. **Os “isqueiros” do Pantanal de Mato Grosso do Sul: uma abordagem sócio-econômica, ambiental e legal**. 2001. 172 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável) – Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília. Brasília, 2001.

RESENDE, E. K. de et al. Peixes insetívoros e zooplantófagos da planície inundável do rio Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Pantanal**. Corumbá, n. 17, p. 42. 1999.

_____. Biologia da tuvira, *Gymnotus cf. carapo* (Pisces, Gymnotidae) no baixo Rio Negro, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Pantanal**, Corumbá, n. 67, p. 42, 2006.

RESENDE, E. K. de, PEREIRA, R. A. C.; Alimentação de *Gymnotus cf carapo* (Pisces: Gymnotidae) e suas relações com a Fauna Associada às Macrófitas Aquáticas no Pantanal, Brasil. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Pantanal**, Corumbá, n. 68, p. 51, 2006.

RIBEIRO, C. da S.; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução de peixes, **Revista da Biologia** n. 8, p. 58–61. 2012.

RIBEIRO, E. L.; CATELLA, C. A.. **Comercio de cebo vivo en el Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil**. In: MEMORIAS DEL IV CONGRESO BOLIVIANO DE ECOLOGÍA, Santa Cruz – Bolivia. 2014.

ROSA, R. M.. **Aspectos histológicos de testículos da tuvira (*Gymnotus spp.*) submetida à reprodução por diferentes indutores hormonais**. Goiânia, p. 57, 2015.

ROTTA, M. A.; Aspectos Biológicos e Reprodutivos para a Criação da Tuvira (*Gymnotus sp.*) em Cativeiro. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Pantanal**, Corumbá, n. 73, p. 30, 2004.

ROTTA, M. A.; PEDROSO, M. F.; ACORCI, L. C. Determinação do sexo da tuiuba *Gymnotus* sp. através da análise de imagem de ultra-som. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Pantanal**, Corumbá, p. 16, 2007.

ROUBACH R.; G. C. de L. O Uso de Anestésicos Durante o Manejo de Peixes. **Panorama da aquicultura**. Manaus – AM, v. 11, n. 66: p. 37 – 40. 2001.

SANTOS, E. P. dos. **Dinâmica de populações aplicada a pesca e a piscicultura**. São Paulo: Hucitec - EDUSP, 1978. 129p.

SANTOS, A. J. G. et al. Pirarucu a identificação do sexo via punção abdominal, **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/revistas/131/pirarucu131.asp>> Acesso em: 25 nov. 2017

SILVA, A. et al. Biogeography and breeding in Gymnotiformes from Uruguay. **Environmental Biology of Fishes**, v. 66, n. 4, p. 329-338, 2003.

SILVA, J. M. V.. **Descrição do comércio de iscas vivas no Pantanal de Mato Grosso do Sul em 2007**. Corumbá: UFMS, 2009. p. 45.

SIMÕES et al. O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, v. 34, n. 2, p. 175-181, Apr.-June, 2012.

STETTER M. **Laparoscopic reproductive sterilization of waterfowl**. Proceedings of the AAZV, AWW, AZA/NAG Joint Conference. Tampa, FL, p.290-293, 2006.

SWENSON, E. A, et al. Validation of endoscopy for determination of maturity in small salmonids and sex of mature individuals. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 4, n. 136, p. 994-998, 2007.

TAVARES-DIAS et. al.,. **Equação da relação peso-comprimento, fator de condição, relação hepato e esplenosômica de 11 teleósteos dulciaquícolas cultivados no Brasil**. CIVA2006 (<http://civa2006.org>): p. 713-720. 2006.

THEODORO, E. (Coord.). Caracterização Sócio-Econômica da Atividade de Coleta e Comercialização de Isca Viva na BAP-MT. In: PROJETO IMPLEMENTAÇÃO DE PRÁTICAS DE GERENCIAMENTO INTEGRADO DE BACIA HIDROGRÁFICA

PARA O PANTANAL E BACIA DO ALTO PARAGUAI. **Resumo Executivo do Relatório Final**. Cuiabá: ANA/GEF/PNUMA/OEA – FEMA/MT, 2003. 27p.

USHIZIMA, T.T.; BOCK, C.L. **Definição de Características Sexuais Secundárias em *Gymnotus* aff. *Carapo* (Teleostei, Gymnotidae)**. Influência da Indução Hormonal como Técnica de Preparação Artificial. Pirassununga, 2000.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Nupélia, Maringá, 1996. 169p.

VERGÍLIO, C.S., et al. Caracterização de testículos maduros e morfologia espermiática de *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Teleostei) do sudeste do Brasil. **Acta Zoologica** (Estocolmo), 94: p. 364-370. 2013.

VIAYEH, R.M. et al. Biochemical and morphometric parameters as indicators of sex and gonadal stages in maturing Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. **Journal Applied Ichthyology**. 22, p. 364–368. 2006.

WILDHABER, M. L. et al., Gender identification of shovelnose sturgeon using ultrasonic and endoscopic imagery and the application of the method to the pallid sturgeon. **Journal of Fish Biology**, v. 67, n. 1, p. 114-132, 2005.

WOODY, C.A. et al. Clove oil as an anesthetic for adult sockeye salmon: field trails. **Journal of Fish Biology**, London, v. 60, n. 2, p. 340-347. 2002.

WOYNAROVICH E, HORVÁTH L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983.

ZANIBONI, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, p.367-373, jul./set. 2007.

ZANIBONI-FILHO E, NUÑER APO. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce**. São Paulo, SP: Tec Art, 2004. p.45-73.

ZOHAR Y, MYLONAS CC. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Aquaculture**, v.197, p.99-136, 2007